

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年2月22日 (22.02.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/12226 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: A61K 45/00, A61P 27/02,  
43/00, 9/00 // A61K 31/4965, 31/497

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05389

(22) 国際出願日: 2000年8月11日 (11.08.2000)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願平11/228120 1999年8月12日 (12.08.1999) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 参天  
製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO.,  
LTD.) [JP/JP]; 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新  
庄3丁目9番19号 Osaka (JP).

(72) 発明者: よび

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 石原高文  
(ISHIHARA, Takafumi) [JP/JP]. 大橋淑起 (OHASHI,  
Yoshiki) [JP/JP]; 〒630-0101 奈良県生駒市高山町8916  
番-16 参天製薬株式会社 研究所内 Nara (JP).

(74) 代理人: 岸本瑛之助, 外 (KISHIMOTO, Einosuke et  
al.); 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13  
番18号 イナビル3階 岸本瑛之助特許事務所 Osaka  
(JP).

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,  
IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV,  
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT,  
RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA,  
UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: ANGIOGENESIS INHIBITORS COMPRISING AS THE ACTIVE INGREDIENT COMPOUND HAVING CHYMASE INHIBITORY EFFECT

(54) 発明の名称: キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分とする血管新生阻害剤

(57) Abstract: Remedies for diseases in which angiogenesis participates having been developed by studying the effect of a compound having a chymase inhibitory effect on angiogenesis. Because of showing an effect of inhibiting angiogenesis, the compound having a chymase inhibitory effect is expected as a preventive or a remedy for diseases in which angiogenesis participates, in particular, diseases associated with intraocular angiogenesis such as diabetic retinopathy, macular degeneration, retinal phlebemphraxis, premature infant retinopathy and angiogenic glaucoma.

(57) 要約:

本発明は、キマーゼ阻害作用を有する化合物の血管新生に及ぼす影響について研究をして完成され、血管新生が関与する疾患の治療剤を提供する。キマーゼ阻害作用を有する化合物は、血管新生阻害作用を示し、血管新生が関与する疾患、特に糖尿病網膜症、黄斑変性症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、血管新生緑内障などの眼内血管新生性疾患の予防または治療剤として期待される。

WO 01/12226 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明細書

キマーゼ阻害作用を有する化合物を  
有効成分とする血管新生阻害剤

5

技術分野

本発明はキマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分とする血管新生阻害剤に関するものである。

10 背景技術

血管新生 (angiogenesis) とは、既存の血管から新しい血管ネットワーク、すなわち新生血管が形成される現象である。血管新生は生体における種々の生理的および病的状態でみられる。生理的な血管新生は、黄体形成や胎盤形成の際に、また病的状態における血管新生は、炎症、創傷治癒、腫瘍の増殖などで認められている。

眼球の組織構築上最も重要な特徴は、組織の透明性であり、血管新生が一度惹起されれば、その透明性が障害され、著しい視機能障害が起こる。眼科領域において、糖尿病網膜症、20 加齢黄斑変性症、未熟児網膜症などのさまざまな疾患が、血管新生病の範疇に入ると考えられ、眼内血管新生性疾患と呼ばれている（眼科, 40, 1677-1683 (1998)）。

血管新生病 (angiogenic diseases) としては、眼内血管新生性疾患の他、固形がん、慢性関節リウマチ、乾せん (psoriasis) 、粥状動脈化巣における血管新生、虚血性心疾患や動脈硬化症に伴う側副血行路形成、血管腫、カポジ肉腫などが挙げられるが、固形がんを対象とする研究が最も進んでいる（最新医学, 53, 2671-2678 (1998)）。また、血管新生

は創傷の治癒過程において起こることもよく知られている。

一方、キマーゼは、心血管系の組織をはじめ、消化管、皮膚、肺、関節（滑膜）などの全身の組織に存在し、心血管病変、炎症、免疫機能、組織構築改変などの生理機能の発揮に5 関与していることが報告されている（医学のあゆみ, 174, 7 43-747 (1995)）。また、キマーゼは、動脈硬化、心筋梗塞、心不全、経皮的冠動脈形成術（P T C A）後の血管再狭窄などの発生（血管と内皮, 5, 461-468(1995)）、糖尿病合併症（Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 369, Suppl. 299-305(1988)）10 、アレルギー性疾患（J. Biochem., 103, 820-822 (1988)）、喘息（J. Pharmacol. Exp. Ther., 244, 133-137 (1988)）、慢性関節リウマチ（Ann. Rheum. Dis., 56, 151-161 (1997)）などに関与していることが報告されている。

しかしながら、キマーゼと血管新生、特に、眼内血管新生15 との関係についての報告は未だなされていない。

上記のように、キマーゼと血管新生との関係は、未だ詳細には解明されておらず、キマーゼ阻害作用を有する化合物の血管新生に及ぼす影響についての研究は非常に興味ある課題20 である。また、血管新生が関与する疾患の治療剤の研究としては、がん等の治療を目的とした薬物に関する研究が数多く行われているが、眼内血管新生性疾患の治療を目的とした薬物の研究は少なく、この分野における薬物の研究開発が望まれている。

25

### 発明の開示

そこで、本発明者等は種々の化学構造を有するキマーゼ阻害作用を有する化合物と血管新生との関係について鋭意研究

を行ったところ、それらのキマーゼ阻害作用を有する化合物が共通して血管新生を阻害することを見出した。すなわち、キマーゼ阻害作用を有する化合物が、血管新生阻害作用を示し、血管新生が関与する疾患、特に糖尿病網膜症、黄斑変性症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、血管新生線内障などの眼内血管新生性疾患の予防または治療剤として期待されることを見出した。

本発明は、キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分とする血管新生阻害剤に関するものである。

本発明におけるキマーゼ阻害作用を有する化合物の化学構造については何ら制限はないが、例を挙げるとキモスタチン、ジフェニル ( $\alpha$ -アミノアルキル) ホスホン酸のペプチド誘導体 (Biochemistry, 30, 485-493 (1991)) などのペプチド性キマーゼ阻害剤；トリアジン誘導体 (特開平8-208654号公報)、複素環式アミド化合物 (特開平10-7661号公報)、フェノールエステル誘導体 (特開平10-87567号公報)、チアジンまたはピラジン誘導体 (特願平11-210907号) などの非ペプチド性キマーゼ阻害剤が挙げられる。

具体的な化合物の例示をすると、キモスタチン、Suc-Va1-Pro-HNCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>Ph)P(O)(OPh)<sub>2</sub> 等のジフェニル ( $\alpha$ -アミノアルキル) ホスホン酸のペプチド誘導体 (Biochemistry, 30, 485-493 (1991))；5-(4-クロロベンジルスルフィニル)-8-ヒドロキシイミダゾ[1,2-d][1,2,4]トリアジン等のトリアジン誘導体 (特開平8-208654号公報)；2-[1,6-ジヒドロ-5-ヒドロキシスクシニルアミノ-2-(3-

メチルフェニル) - 6 - オキソ - 1 - ピリミジニル] - N -  
 [1 - ベンジル - 3, 3 - ジフルオロ - 2 - オキソ - 3 -  
 [N - (カルボキシメチル) カルバモイル] プロピル] アセ  
 タミド等の複素環式アミド化合物 (特開平10-7661号  
 5 公報) ; (S) - 1 - [4 - (3 - インドリルアセトキシ)  
 ベンゾイル] ピロリジン - 2 - カルボン酸等のフェノールエ  
 ステル誘導体 (特開平10-87567号公報) ; (3S)  
 - 3 - [(3R) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル -  
 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ  
 10 ピラジン - 1 - イル] メチルカルボニルアミノ - 2 - オキソ  
 - 4 - フェニル酪酸 イソプロピルエステル、臭化 1 - ベ  
 ンジル - 3 - [(2R) - 4 - [(1S) - 1 - ベンジル -  
 2 - (4, 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - オキ  
 サゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメチ  
 15 ル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1,  
 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] ピ  
 リジニウム、臭化 3 - [(2R) - 4 - [(1S) - 1 -  
 ベンジル - 2 - (4, 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1,  
 3 - オキサゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモ  
 20 イルメチル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニ  
 ル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボ  
 ニル] - 1 - カルバモイルメチルピリジニウム、ヨウ化 4  
 - [(2R) - 4 - [(1S) - 1 - ベンジル - 2 - (4,  
 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - オキサゾール -  
 25 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメチル] - 2 -  
 イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1, 2, 3, 4  
 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] - 1 - メチル  
 ピリジニウム等のピラジン誘導体 (特願平11-21090

7号) などが挙げられる。

後述の薬理試験の項で詳細に説明するが、*in vivo* の血管新生評価モデルとして、汎用されているアッセイ系の1つであるニワトリ漿尿膜 (chorioallantoic membrane: CAM) 5 法を用いて検討した結果、キマーゼ阻害作用を有する化合物が血管新生に対して阻害効果を有することを見いだした。

本発明はキマーゼ阻害作用を有する化合物が、化学構造とは関係なく、血管新生阻害作用を発揮するところに特徴があり、血管新生阻害の強弱は本発明の有用性に影響を与えるものではない。10

本発明は、血管新生が関与する疾患の予防または治療剤を提供するものであり、その疾患の例としては、眼内血管新生性疾患、 固形がん、慢性関節リウマチ、乾せん (psoriasis) 、粥状動脈化巣における血管新生、虚血性心疾患や動脈硬化症に伴う側副血行路形成、血管腫、カボジ肉腫などが挙げられる。ところで、これらの血管新生が関与する疾患の治療剤の研究としては、がん等の治療を目的とした薬物の研究は数多く行われているが、眼内血管新生性疾患を対象とした薬物の研究は少なく、本発明の主なる目的は、この眼内血管新生性疾患に有用な薬物を提供することにある。無論、本発明は血管新生が関与する疾患に広く適用できるものであり、眼内血管新生性疾患に対象が限定されるものではない。20

眼内血管新生性疾患では、血管新生そのものが病勢を左右する決定因子となりうるため、血管新生を抑制することによってこれら疾患の予防および治療が可能となる (炎症と免疫, 25 4, 343-349 (1996) ) ことから、本試験結果は、キマーゼ阻害作用を有する化合物が、血管新生が関与する疾患、特に糖尿病網膜症、黄斑変性症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、

血管新生緑内障などの眼内血管新生性疾患の予防剤または治療剤として有用であることを示すものである。

眼内血管新生は、部位別に、網膜血管新生および硝子体内血管新生、虹彩血管新生、脈絡膜血管新生に分類される。

5 網膜血管新生および硝子体内血管新生を伴う眼内血管新生性疾患として、糖尿病網膜症、網膜中心静脈閉塞症、未熟児網膜症等の眼内血管新生性疾患が挙げられる。

10 虹彩血管新生を伴う眼内血管新生性疾患として、網膜中心静脈閉塞症、糖尿病網膜症、網膜中心動脈閉塞症、頸動脈疾患、ぶどう膜炎、眼内腫瘍等の眼内血管新生性疾患が挙げられる。

15 脈絡膜血管新生を伴う眼内血管新生性疾患として、加齢黄班変性症（老人性円板状黄斑変性症）、網膜色素線条症、高度近視、眼ヒストプラズマ症（presumed ocular histoplasmosis；POHS）、脈絡膜破裂、突発性脈絡膜新生血管等の眼内血管新生性疾患が挙げられる。

20 キマーゼ阻害作用を有する化合物は、経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射剤、点眼剤等が挙げられる。これらは汎用されている技術を用いて調製することができる。例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤であれば、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の增量剤；ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤；カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤；ゼラチン皮膜等の皮膜剤などを必要に応じて加えて、

上記化合物を製剤化すればよい。点眼剤であれば、塩化ナトリウム、濃グリセリン等の等張化剤；リン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等の緩衝化剤；ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ステアリン酸ポリオキシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤；クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等の安定化剤；塩化ベンザルコニウム、パラベン等の防腐剤等を必要に応じて用いて、上記化合物を製剤化することができる。pHは眼科製剤に許容される範囲内にあればよいが、4～8の範囲が好ましい。また、眼軟膏であれば、白色ワセリン、流動パラフィン等の汎用される基剤を用いて調製することができる。

投与量は症状、年令、剤型等によって適宜選択できるが、点眼剤であれば0.0001～5% (w/v)、好ましくは0.001～3% (w/v)、特に好ましくは0.001～1% (w/v) のものを1日1～数回点眼すればよい。また、経口剤であれば通常1日当り0.1～5000mg、好ましくは1～1000mgを1回または数回に分けて投与すればよい。

以下に、製剤例および薬理試験の結果を示すが、これらの実施例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

#### 発明を実施するための最良の形態

##### [製剤例]

25 本発明の経口剤、点眼剤および注射剤の一般的な製剤例を以下に示す。

###### 1) カプセル剤

処方 (150mg中)

キマーゼ阻害作用を有する化合物	5. 0 m g
乳糖	145. 0 m g

キマーゼ阻害作用を有する化合物と乳糖の混合比を変えることにより、キマーゼ阻害作用を有する化合物の成分量が 10. 0 m g / カプセル、 30. 0 m g / カプセル、 50. 0 m g / カプセル、 100. 0 m g / カプセルのカプセル剤も調製できる。

10 2) 点眼剤 (10 m l 中)

キマーゼ阻害作用を有する化合物	1 m g
濃グリセリン	250 m g
ポリソルベート 80	200 m g
リン酸二水素ナトリウム二水和物	適量
1 N 水酸化ナトリウム	適量
1 N 塩酸	適量
滅菌精製水	

キマーゼ阻害作用を有する化合物と添加物量を適宜変更することにより、キマーゼ阻害作用を有する化合物の濃度が、 0. 0001%、 0. 001%、 0. 005%、 0. 05%、 0. 1%、 0. 5%、 1. 0%、 3. 0%、 5. 0% (w/v) である点眼剤も調製できる。

25 3) 注射剤 (100 m l 中)

キマーゼ阻害作用を有する化合物	10. 0~100. 0 m g
1 N 水酸化ナトリウム	適量
1 N 塩酸	適量

生理食塩水	適量
-------	----

## [薬理試験]

## 1.漿尿膜法による血管新生阻害効果

5 血管新生に及ぼす薬物の阻害効果を測定するため汎用される *in vivo* 血管新生評価モデルの 1 つとして、受精卵胚を用いたニワトリ漿尿膜 (C A M) 法 (Biochem. Biophys. Res. Commun., 174, 1070-1076 (1991) ) が報告されている。そこで、上記文献に記載された方法を参考にして、キマーゼ阻  
10 害作用を有する化合物の血管新生に対する阻害効果について検討した。

## (投与用ペレットの調製)

15 1. メチルセルロース 4 0 0 0 c P (0. 1 g) を滅菌精製水 (1 0 m l) に溶解し、1 % メチルセルロース溶液とする。

2. 被験化合物をエタノール／滅菌精製水 (1 / 1) で溶解し、2 4  $\mu$  m o l / m l の被験化合物溶液を調製する。

3. 2 4  $\mu$  m o l / m l の被験化合物溶液 (0. 2 0 m l) と 1 % メチルセルロース溶液 (0. 2 0 m l) を混合し、被  
20 験化合物混合液 (1 2  $\mu$  m o l / m l) とする。

4. 被験化合物混合液 (1 0  $\mu$  l) を直径 3 m m のパラフィンフィルム上で風乾し、被験化合物ペレットを得る (0. 1 2  $\mu$  m o l / ペレット)。

## (実験方法)

25 1. 受精後 3 日齢の孵化卵 (ホワイトレグホン) 入荷後、直ちに卵殻表面を 7 0 % エタノールで洗浄・消毒した。これら孵化卵を空気相を上にして 6 穴の培養プレートに 3 個づつ立てた後、C O<sub>2</sub> インキュベーター (3 7 °C、湿度 9 5 %、

CO<sub>2</sub> 濃度 5 %) 内で 20 分間培養した。

2. CO<sub>2</sub> インキュベーターから孵化卵を取り出し、クリーンベンチ内で孵化卵の空気相上部の卵殻に約 1 cm 四方の穴を開けた。

5 3. 裸膜を卵黄膜から注意深く剥離した。卵殻上の穴を直径 1.3 mm の培養シャーレで覆った後、孵化卵を CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 1 日間培養した。

4. 4 日齢孵化卵の胚漿尿膜上（既存血管の少ないところ）にパラフィンフィルム上の被験化合物ペレットをその薬物面 10 が胚漿尿膜に接着するように静置した。

5. この孵化卵を再び CO<sub>2</sub> インキュベーターに搬入し 2 日間培養した。

6. 10 % イントラリピッド（血管造影剤）約 1 ml を 6 日齢孵化卵の胚漿尿膜内に注入し、実体顕微鏡（×10）にてペレット周囲の血管形成を観察した。血管新生が認められない場合を陽性とし、血管新生阻害率（%）は以下の式により算出した。

血管新生阻害率（%） =

20 [（陽性を示した孵化卵数）／（試験に供した孵化卵数）] × 100

### （結果）

被験化合物としてキモスタチン、(3S)-3-[ (3R)-4-イソブチリル-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル] メチルカルボニルアミノ-2-オキソ-4-フェニル酪酸 イソプロピルエステル（化合物 1-1）、臭化 1-ベ

ンジル - 3 - [ (2R) - 4 - [ (1S) - 1 - ベンジル - 2 - (4, 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - オキサゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメチル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1, 5 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] ピリジニウム (化合物 2 - 1) 、臭化 3 - [ (2R) - 4 - [ (1S) - 1 - ベンジル - 2 - (4, 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - オキサゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメチル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] - 1 - カルバモイルメチルピリジニウム (化合物 2 - 2) 、ヨウ化 4 - [ (2R) - 4 - [ (1S) - 1 - ベンジル - 2 - (4, 4 - ジメチル - 4, 5 - ジヒドロ - 1, 3 - オキサゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメチル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] - 1 - メチルピリジニウム (化合物 2 - 3) 、Suc - Val - Pro - HNCH (CH<sub>2</sub>Ph)P(O)(OPh)<sub>2</sub> (化合物 A) 、5 - (4 - クロロベンジルスルフィニル) - 8 - ヒドロキシミダゾ [1, 2 - d] [1, 2, 4] トリアジン (化合物 B) 、2 - [1, 6 - ジヒドロ - 5 - ヒドロキシスクシニルアミノ - 2 - (3 - メチルフェニル) - 6 - オキソ - 1 - ピリミジニル] - N - [1 - ベンジル - 3, 3 - ジフルオロ - 2 - オキソ - 3 - 25 [N - (カルボキシメチル) カルバモイル] プロピル] アセタミド (化合物 C) 、(S) - 1 - [4 - (3 - インドリルアセトキシ) ベンゾイル] ピロリジン - 2 - カルボン酸 (化合物 D) を用いた実験結果 (投与量: 0, 12 μm o l / 卵)

を表1に示す。

なお、(特願平11-210907号)記載の化合物(化合物1-1、化合物2-1、化合物2-2、化合物2-3)は後述の製造参考例の方法により、化合物AはBiochemistry, 5 30, 485-493 (1991)に記載の方法により、化合物Bは特開平8-208654号公報に記載の方法により、化合物Cは特開平10-7661号公報に記載の方法により、化合物Dは特開平10-87567号公報に記載の方法により、各々合成した。

10

表 1

15

20

被験化合物	血管新生阻害率(%)
キモスタチン	75
化合物1-1	50
化合物2-1	50
化合物2-2	57
化合物2-3	75
化合物A	75
化合物B	100
化合物C	56
化合物D	50

表1に示したように、被験化合物はいずれも血管新生阻害作用を示した。

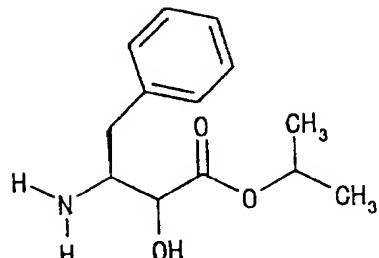
上記のことから、キマーゼ阻害作用を有する化合物が、血管新生阻害作用を有していることが明らかとなった。

[製造参考例]

## 参考例 1

(2R, 3S)-3-アミノ-2-ヒドロキシ-4-フェニル酪酸 イソプロピルエステル (原料化合物 1-1) の  
製造

5



10

1-1) (2S)-2-アミノ-3-フェニル-1-プロパノール (1.00 g) のテトラヒドロフラン (15 ml) 溶液に二炭酸ジ-tert-ブチル (1.44 g) のテトラヒドロフラン (5 ml) 溶液を滴下し、30 分間攪拌する。次いで、反応溶液を減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。 (2S)-2-(tert-ブトキシカルボニル) アミノ-3-フェニル-1-プロパノール (1.70 g) を得る。

20 m p 95.2-96.7 °C

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -26.9° (c = 1.0, メタノール)IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3355, 1688, 1529, 1444, 1367, 1316, 1270, 1252, 1169, 1006, 702

25

1-2) (2S)-2-(tert-ブトキシカルボニル) アミノ-3-フェニル-1-プロパノール (5.00 g) のジメチルスルホキシド (100 ml) 溶液にトリエチルアミン

(17 ml) を加える。次いで、反応溶液に三酸化硫黄ピリジン錯体 (11.1 g) を加え40分間攪拌する。反応溶液に水を加え、ジエチルエーテルで抽出する。抽出液を飽和塩化アンモニウム水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、5 鮑和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。(2S)-2-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ-3-フェニルプロパナール (4.48 g) を得る。

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1731, 1672, 1561

10

1-3) 氷冷下、(2S)-2-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ-3-フェニルプロパナール (2.00 g) と水 (20 ml) の懸濁液に亜硫酸水素ナトリウム (0.92 g) の水 (5 ml) 溶液を加えた後、室温まで昇温し一晩攪拌する。反応溶液に酢酸エチル (100 ml) を加え1時間攪拌後、シアン化カリウム (0.58 g) の水 (5 ml) 溶液を加え、さらに4時間攪拌する。反応溶液を酢酸エチルで抽出し、抽出液を鮑和食塩水で洗浄する。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、(2RS, 3S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ-2-ヒドロキシ-4-フェニルブタンニトリル (1.18 g) を得る。

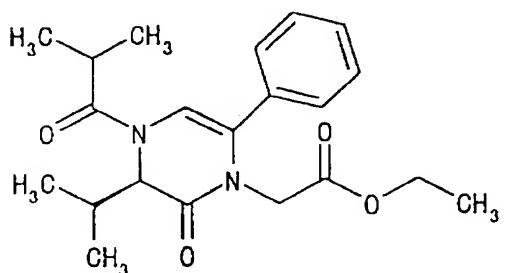
1-4) 氷冷下、(2RS, 3S)-3-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ-2-ヒドロキシ-4-フェニルブタンニトリル (1.00 g) のイソプロパノール (40 ml) 溶液を塩化水素で鮑和後、室温まで昇温し一晩攪拌する。反応溶液を減圧濃縮し、得られる残留物に0.1 N 塩酸を加え、室温で20分攪拌する。反応溶液をジエチルエーテルで洗浄後、鮑和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、系内を塩基性と

し、酢酸エチルで抽出する。抽出液を水、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、標記化合物（原料化合物1-1、0.54g）を得る。

### 参考例2

5 [ (3R)-4-イソブチリル-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル] 酢酸 エチルエステル（原料化合物2-1）の製造

10



15

2-1) メタノール（210ml）を-15℃に冷却後、塩化チオニル（55.4ml）を滴下し、20分間攪拌する。反応溶液にD-バリン（25g）を加え、室温で一晩攪拌する。反応溶液を減圧濃縮し、得られる残留物にジエチルエーテルを加え、結晶を析出させる。析出した結晶をろ取し、D-バリン メチルエステル 塩酸塩（35.17g）を得る。

m.p. 162.5-166.0℃

$[\alpha]_D^{20} -24.0^\circ$  (c = 2.0, メタノール)

25 I.R. (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3463, 2975, 1981, 1740, 1595, 1508

2-2) D-バリン メチルエステル 塩酸塩（3.36

g) の塩化メチレン (100 ml) 懸濁液にジイソプロピルエチルアミン (7.66 ml) と 2-ブロモアセトフェノン (4.2 g) を加え、一晩加熱還流する。反応溶液を室温まで放冷し、ジエチルエーテルを加え、0.1 N 塩酸で抽出する。抽出液に炭酸水素ナトリウムを加え、系内を塩基性とし、酢酸エチルで抽出する。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、(2R)-2-(2-オキソ-2-フェニルエチル)アミノイソ吉草酸メチルエステル (4.47 g) を得る。

10 m p 41.5-46.0 °C

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +33.6° (c = 1.0, メタノール)

I R (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3333, 3085, 3029, 3000, 2971, 2954, 1727, 1685, 1596

15

2-3) 氷冷下、(2R)-2-(2-オキソ-2-フェニルエチル)アミノイソ吉草酸メチルエステル (17.8 g) の酢酸エチル (170 ml) 溶液に炭酸ナトリウム (16.6 g) の水 (60 ml) 溶液を加えたのち、塩化イソブチリル (13.5 g) の酢酸エチル (30 ml) 溶液を加える。室温まで昇温し一晩攪拌する。反応溶液を分液し、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、(2R)-2-[N-イソブチリル-N-(2-オキソ-2-フェニルエチル)]アミノイソ吉草酸メチルエステル (23.0 g) を得る。

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +59.1° (c = 1.0, メタノール)

I R (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1732, 1697, 1648,

## 1 4 5 0

2 - 4) (2 R) - 2 - [N - イソブチリル - N - (2 - オキソ - 2 - フェニルエチル) ] アミノイソ吉草酸 メチル  
5 エステル (22.8 g) のメタノール (160 ml) 溶液を  
アンモニアガスで飽和後、封管し 6 日間攪拌する。反応溶液  
を減圧濃縮し、(2 R) - 2 - [N - イソブチリル - N -  
(2 - オキソ - 2 - フェニルエチル) ] アミノイソ吉草酸ア  
ミド (21.7 g) を得る。

10 2 - 5) (2 R) - 2 - [N - イソブチリル - N - (2 - オキソ - 2 - フェニルエチル) ] アミノイソ吉草酸アミド  
(21.7 g) のトルエン (300 ml) 溶液に触媒量の p  
-トルエンスルホン酸一水和物を加え、45 時間加熱還流す  
る。反応溶液を室温まで放冷し、酢酸エチルで抽出する。抽  
15 出液を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥す  
る。反応溶液を減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラム  
クロマトで精製する。(3 R) - 4 - イソブチリル - 3  
-イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3,  
4 - テトラヒドロピラジン (17.0 g) を得る。

20 [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 401.6° (c = 0.51, メタノ  
ル)  
IR (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3218, 3104, 1682,  
1467, 1446

25 2 - 6) 氷冷下、(3 R) - 4 - イソブチリル - 3 - イソ  
プロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テ  
トラヒドロピラジン (17.0 g) のテトラヒドロフラン  
(200 ml) 溶液に 60% 水素化ナトリウム (2.61 g)

を加え 30 分間攪拌する。反応溶液にプロモ酢酸エチル (6. 6 ml) を加えた後、室温まで昇温し 3 時間攪拌する。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加える。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、標記化合物 (原料化合物 2-1、22. 1 g) を得る。

m p 69. 5 - 74. 0 °C

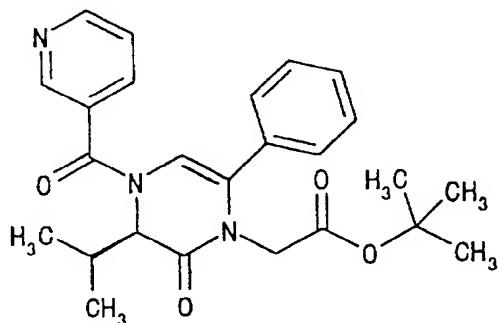
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -165. 5° (c = 0. 52, メタノール)

10 IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 1755, 1684, 1455

以下、参考例 2 と同様に操作し、下記化合物を得る。

• [ (3R) - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 4 - (3 - ピリジルカルボニル) - 1, 2, 3, 4 - テ 15 トライドロピラジン - 1 - イル] 酢酸 tert - ブチルエス テル (原料化合物 2-2)

20

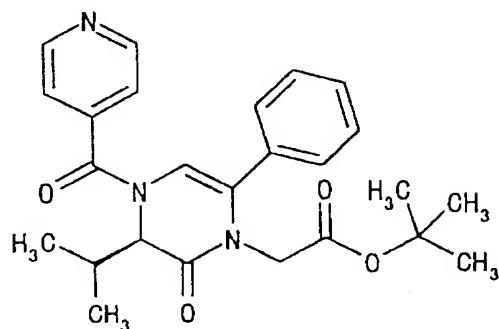


25 IR (film, cm<sup>-1</sup>) 2972, 2930, 1742, 1690, 1674, 1649, 1387, 1230, 1155, 756, 702

• [ (3R) - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 4 - (4 - ピリジルカルボニル) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル] 酢酸 tert - ブチルエステル (原料化合物 2 - 3)

5

10



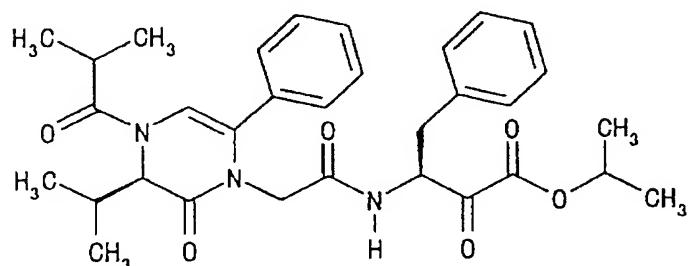
IR (film,  $\text{cm}^{-1}$ ) 1741, 1690, 1388,  
1230, 1155, 756

15

### 参考例 3

(3S) - 3 - [ (3R) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル] メチルカルボニルアミノ - 2 - オキソ - 4 - フェニル酪酸 イソプロピルエステル (化合物 1 - 1) の製造

25



3 - 1 ) 氷冷下、 [ ( 3 R ) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1 , 2 , 3 , 4 - 5 テトラヒドロピラジン - 1 - イル ] 酢酸 エチルエステル ( 原料化合物 2 - 1 、 23.9 g ) のエタノール ( 150 ml ) 溶液に 1 N 水酸化リチウム水溶液 ( 140 ml ) を加え、 2 時間攪拌する。反応溶液にジエチルエーテル ( 200 ml ) を加えたのち、 6 N 塩酸を加えて系内を酸性とし、 酢酸エチルで抽出する。抽出液を飽和食塩水で洗浄後、 無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、 [ ( 3 R ) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル ] 酢酸 ( 21.7 g ) を得る。

15 [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 158.8° ( c = 0.53, メタノール )

I R ( K B r , cm<sup>-1</sup> ) 3500 - 2800 , 1744 , 1687

20 3 - 2 ) [ ( 3 R ) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル ] 酢酸 ( 353 mg ) の塩化メチレン ( 3.5 ml ) 溶液に N - メチルモルホリン ( 170  $\mu$  l ) 、 ヒドロキシベンゾトリアゾール ( 180 mg ) 、 ( 2 R S , 3 S ) - 3 - アミノ - 2 - ヒドロキシ - 4 - フェニル酪酸 イソプロピルエステル ( 原料化合物 1 - 1 、 242 mg ) を加える。反応溶液を氷冷し、 1 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - 3 - エチルカルボジイミド 塩酸塩 ( 235

m g) を加え、一晩攪拌する。反応溶液に酢酸エチルを加え、0. 1 N 水酸化ナトリウム水溶液、飽和食塩水、0. 1 N 塩酸、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。(2 R S, 3 S) - 2 - ヒドロキシ - 3 - [(3 R) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル] メチルカルボニルアミノ - 4 - フェニル酪酸イソプロピルエステル (573 m g) を得る。

10      I R (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3338, 1732, 1682,  
1537, 1391, 1227, 1106

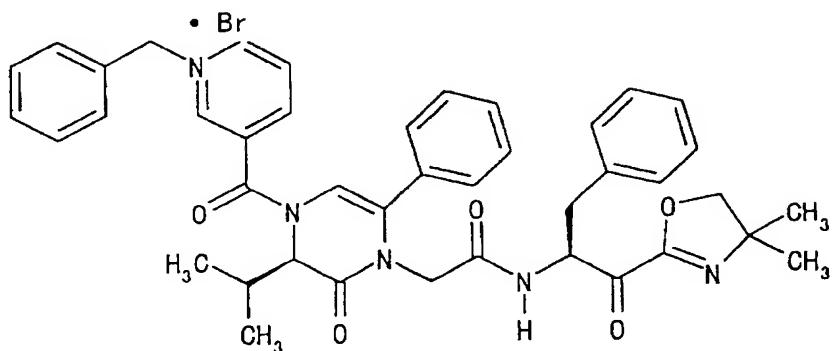
3 - 3) (2 R S, 3 S) - 2 - ヒドロキシ - 3 - [(3 R) - 4 - イソブチリル - 3 - イソプロピル - 2 - オキソ - 6 - フェニル - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロピラジン - 1 - イル] メチルカルボニルアミノ - 4 - フェニル酪酸 イソプロピルエステル (538 m g) の塩化メチレン (5. 0 m l) 溶液にデス・マーチン酸化試薬 (1. 19 g) を加え、室温で 2 時間攪拌する。反応溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (5 m l) と飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液 (5 m l) を加えて、10 分間攪拌する。反応溶液を酢酸エチルで抽出する。抽出液を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。標記化合物 (化合物 1 - 1、439 m g) を得る。

11      I R (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3324, 1727, 1682,  
1524, 1390, 1227

## 参考例 4

臭化 1-ベンジル-3-[ (2R)-4-[ (1S)-1-ベンジル-2-(4,4-ジメチル-4,5-ジヒドロ-1,3-オキサゾール-2-イル)-2-オキソエチルカルバモイルメチル]-2-イソプロピル-3-オキソ-5-フェニル-1,2,3,4-テトラヒドロ-1-ピラジニルカルボニル] ピリジニウム (化合物 2-1) の製造

10



15

4-1) 氷冷下、[ (3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル] 酢酸 tert-ブチルエステル (原料化合物 2-2、50.0 g) の酢酸エチル (60 ml) 溶液に 4 N 塩化水素／酢酸エチル溶液 (173 ml) を加え、室温で 16 時間攪拌する。反応溶液を減圧濃縮し、得られる結晶をろ取し、[ (3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル] 酢酸 (26.6 g) を得る。

m p 230-240 °C

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3056, 2965, 2879, 1682, 1603, 1543, 1465, 1448

4-2) [(3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル]酢酸(26.5g)の塩化メチレン(500m1)溶液にN-メチルモルホリン(16.1m1)、ヒドロキシベンゾトリアゾール(14.1g)およびL-フェニルアラニノール(11.6g)を加える。反応溶液を氷冷し、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(16.1g)を加え、17時間攪拌する。反応溶液に酢酸エチルを加え、飽和食塩水で洗浄する。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、(2S)-2-[(3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル]メチルカルボニルアミノ-3-フェニル-1-プロパノール(36.8g)を得る。

$[\alpha]_D^{20} = 121.7^\circ$  (c = 0.97, メタノール)

IR (Fi 1m, cm<sup>-1</sup>) 3327, 2962, 2927, 1669, 1644, 1446

20

4-3) (2S)-2-[(3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1,2,3,4-テトラヒドロピラジン-1-イル]メチルカルボニルアミノ-3-フェニル-1-プロパノール(36.7g)のジメチルスルホキシド(400m1)溶液にトリエチルアミン(60m1)を加える。反応溶液に三酸化硫黄ピリジン錯体(34.2g)を加え、室温で30分間攪拌する。氷冷下、反応溶液に水を加えて1時間攪拌後、酢酸エ

チルで抽出する。抽出液を飽和塩化アンモニウム水溶液、水、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、(2S)-2-[ (3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル]メチルカルボニルアミノ-3-フェニルプロパナール(37.5g)を得る。

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -106.5° (c = 0.99, クロロホルム)

10 IR (F i 1m, cm<sup>-1</sup>) 3326, 2963, 2925, 1668, 1643, 1588, 1539, 1446

4-4) (2S)-2-[ (3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル]メチルカルボニルアミノ-3-フェニルプロパナール(37.4g)を水(440ml)に懸濁し、亜硫酸水素ナトリウム(26.3g)、酢酸エチル(1100ml)を加え、30分間攪拌する。反応溶液にシアン化カリウム(14.3g)を加え、19時間攪拌する。反応溶液に水を加え、酢酸エチルで抽出する。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。(2RS, 3S)-2-ヒドロキシ-3-[ (3R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル]メチルカルボニルアミノ-4-フェニルブタンニトリル(21.6g)を得る。

I R (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3 3 5 6, 2 9 5 6, 1 6 6 2,  
1 6 4 8, 1 5 4 0, 1 4 5 0, 1 4 2 6

4-5) 窒素雰囲気下、氷冷しながら、エタノール (2. 5 6 m l) のクロロホルム (4 m l) 溶液に塩化アセチル (1. 5 9 m l) を滴下する。氷冷下、1 時間攪拌したのち、(2 R S, 3 S)-2-ヒドロキシ-3-[ (3 R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル] メチルカルボニルアミノ-4-フェニルブタンニトリル (4 7 9 m g) のクロロホルム (6 m l) 溶液を加える。室温で1時間攪拌したのち、反応溶液を減圧濃縮する。得られる残留物を 1, 2-ジクロロエタン (6 m l) に溶解し、トリエチルアミン (3 7 2  $\mu$  l)、2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール (1 5 3  $\mu$  l) を加え、1日加熱還流する。室温まで放冷し、酢酸エチルで抽出する。抽出液を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。(1 R S, 2 S)-1-(4, 4-ジメチル-4, 5-ジヒドロ-1, 3-オキサゾール-2-イル)-2-[ (3 R)-3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4-(3-ピリジルカルボニル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル] メチルカルボニルアミノ-3-フェニル-1-プロパノール (2 5 2 m g) を得る。

25 I R (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3 3 2 4, 2 9 6 6, 1 6 7 3,  
1 6 4 4

4-6) (1 R S, 2 S)-1-(4, 4-ジメチル-4,

5-ジヒドロ-1, 3-オキサゾール-2-イル) -2-  
 [ (3R) -3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル  
 -4- (3-ピリジルカルボニル) -1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル] メチルカルボニルアミノ-3  
 5-フェニル-1-プロパノール (229 mg) の塩化メチレン (5 ml) 溶液にデス・マーチン酸化試薬 (319 mg) を加え、室温で2時間攪拌する。反応溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (20 ml) と飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液 (20 ml) を加えて、10分間攪拌する。反応溶液を酢酸エチルで抽出する。抽出液を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水の順で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥する。減圧濃縮し、得られる残留物をシリカゲルカラムクロマトで精製する。 (2S) -1- (4, 4-ジメチル-4, 5-ジヒドロ-1, 3-オキサゾール-2-イル) -2- [ (3R) -3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4- (3-ピリジルカルボニル) -1, 2, 3, 4-テトラヒドロピラジン-1-イル] メチルカルボニルアミノ-1-オキソ-3-フェニルプロパン (105 mg) を得る。

20 [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -104.9° (c = 1.0, ジメチルスルホキシド)

IR (F i 1 m, cm<sup>-1</sup>) 3325, 3023, 2969, 1723, 1678, 1642, 1589, 1517, 1447

25

4-7) (2S) -1- (4, 4-ジメチル-4, 5-ジヒドロ-1, 3-オキサゾール-2-イル) -2- [ (3R) -3-イソプロピル-2-オキソ-6-フェニル-4- (3

—ピリジルカルボニル) —1, 2, 3, 4—テトラヒドロピラジン—1—イル] メチルカルボニルアミノ—1—オキソ—3—フェニルプロパン (61 mg) のアセトニトリル (1.5 ml) 溶液に臭化ベンジル (357  $\mu$ l) を加え、一晩攪拌する。減圧濃縮し、得られる残留物にジエチルエーテルを加え結晶を析出させる。析出した結晶をろ取り、標記化合物 (化合物 2-1、61 mg) を得る。

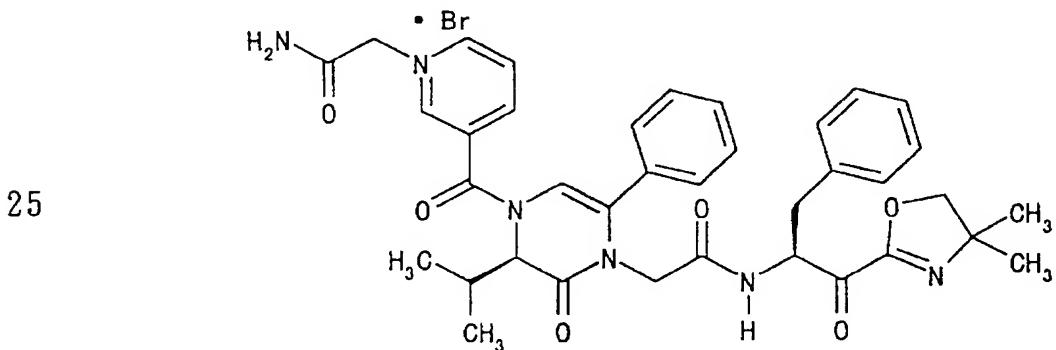
m p 135—150 °C

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> —110.1° (c = 1.0, ジメチルスルホキシド)

IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3400, 3188, 3031, 2966, 1725, 1674, 1455, 1446

以下、参考例 4 と同様に操作し、下記化合物を得る。

15 • 臭化 3—[(2R)—4—[(1S)—1—ベンジル—2—(4, 4—ジメチル—4, 5—ジヒドロ—1, 3—オキサゾール—2—イル)—2—オキソエチルカルバモイルメチル]—2—イソプロピル—3—オキソ—5—フェニル—1, 2, 3, 4—テトラヒドロ—1—ピラジニルカルボニル]—1—カルバモイルメチルピリジニウム (化合物 2-2)



m p 1 1 0 . 0 °C

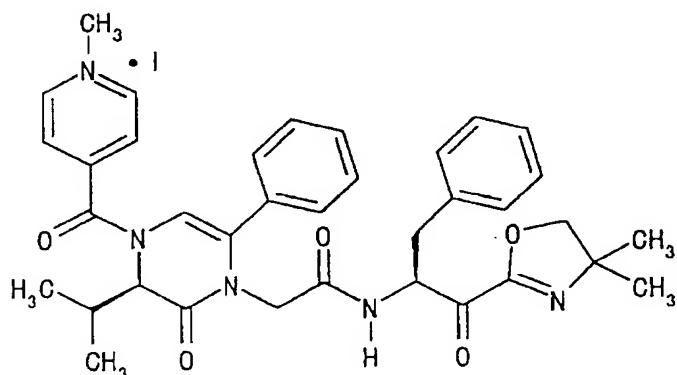
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 1 0 3 . 1 ° (c = 0 . 9 8 , ジメチル  
スルホキシド)

I R (K B r , cm<sup>-1</sup>) 3 1 6 5 , 2 9 6 8 , 1 6 7 4

5

• ヨウ化 4 - [ (2 R) - 4 - [ (1 S) - 1 - ベンジル  
- 2 - (4 , 4 - ジメチル - 4 , 5 - ジヒドロ - 1 , 3 - オ  
キサゾール - 2 - イル) - 2 - オキソエチルカルバモイルメ  
チル] - 2 - イソプロピル - 3 - オキソ - 5 - フェニル - 1 ,  
10 2 , 3 , 4 - テトラヒドロ - 1 - ピラジニルカルボニル] -  
1 - メチルピリジニウム (化合物 2 - 3 )

15



20

m p 1 3 0 - 1 6 4 °C

I R (K B r , cm<sup>-1</sup>) 3 4 2 2 , 3 0 3 1 , 1 6 7 7 ,  
1 5 2 0 , 1 4 4 8 , 1 4 0 4 , 1 3 4 9 , 1 2 7 8 , 7 5  
6 , 7 0 2

25

したがって、キマーゼ阻害作用を有する化合物は血管新生  
阻害作用を有しており、血管新生が関与する疾患、特に糖尿病網膜症、黄斑変性症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、血

管新生線内障などの眼内血管新生性疾患の予防または治療剤として有用であることが期待される。

産業上の利用可能性

5 キマーゼ阻害作用を有する化合物は、血管新生阻害作用を示し、血管新生が関与する疾患、特に糖尿病網膜症、黄斑変性症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症、血管新生線内障などの眼内血管新生性疾患の予防または治療剤として期待される。

10

15

20

25

## 請求の範囲

1. キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分とする血管新生阻害剤。
- 5 2. 血管新生が眼内血管新生である請求項1記載の阻害剤。
3. 血管新生が脈絡膜血管新生である請求項1記載の阻害剤。
4. キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼内血管新生性疾患治療剤。
- 10 5. 眼内血管新生性疾患が糖尿病網膜症または黄斑変性症である請求項4記載の治療剤。
6. キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分として、医薬的に有効量の血管新生阻害剤を投与することを含む血管新生阻害方法。
- 15 7. 血管新生が眼内血管新生である請求項6記載の方法。
8. 血管新生が脈絡膜血管新生である請求項6記載の方法。
- 20 9. キマーゼ阻害作用を有する化合物を有効成分として、医薬的に有効量の血管新生阻害剤を投与することを含む血管新生性疾患の治療方法。
10. 眼内血管新生性疾患が糖尿病網膜症または黄斑変性症である請求項9記載の方法。
- 25 11. 血管新生の阻害剤製造のためのキマーゼ阻害作用を有する化合物の使用。
12. 血管新生が眼内血管新生である請求項11記載の使用。

1 3 . 血管新生が脈絡膜血管新生である請求項 1 1 記載の使用。

1 4 . 血管新生性疾患の治療剤製造のためのキマーゼ阻害作用を有する化合物の使用。

5 1 5 . 眼内血管新生性疾患が糖尿病網膜症または黄斑変性症である請求項 1 4 記載の使用。

10

15

20

25

3 1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05389

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, A61P27/02, 43/00, 9/00 // A61K31/4965, 31/497

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, A61P27/02, 43/00, 9/00 // A61K31/4965, 31/497

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	MURAMASTU M., et al., 'Chymase mediates mast cell-induced angiogenesis in hamster sponge granulomas' Eur. J. Pharmacol., (2000), Vol.402, No.1/2, pages 181 to 191 & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), Columbus, OH, USA), AN.2000 : 554395	1-8, 11-15
A	EP, 713876, A1 (Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd.), 29 May, 1996 (29.05.96) & JP, 8-208654, A	1-8, 11-15

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
18 October, 2000 (18.10.00)

Date of mailing of the international search report  
31 October, 2000 (31.10.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP00/05389

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: 9-10  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 9 and 10 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2) (a) (i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K45/00, A61P27/02, 43/00, 9/00 // A61K31/4965, 31/497

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61K45/00, A61P27/02, 43/00, 9/00 // A61K31/4965, 31/497

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), MEDLINE(STN), EMBASE(STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	MURAMASTU M. et al, 'Chymase mediates mast cell-induced angiogenesis in hamster sponge granulomas' Eur. J. Pharmacol., 2000, Vol. 402, No. 1/2, pages 181 to 191 & Database CAPLUS on STN, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY (ACS), Columbus, OH, USA), AN. 2000:554395	1-8, 11-15
A	EP, 713876, A1 (Wakamoto Pharmaceutical Co., Ltd.) 29. 5月. 1996 (29. 05. 96) & JP, 8-208654, A	1-8, 11-15

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 18. 10. 00	国際調査報告の発送日 31.10.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 森井 隆信 電話番号 03-3581-1101 内線 3451 4C 9455 平成

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 9-10 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 9 及び 10 は、治療による人体の処置方法に該当し、PCT17条(2)(a) (i) 及び PCT規則39(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2.  請求の範囲 は、有意義な国際調査をできる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求の範囲 は、従属請求の範囲であって PCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。